

**ФЕНО- И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЭНТЕРОВИРУСОВ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ, 2003-2022****Н.В. ПОКЛОНСКАЯ<sup>1\*</sup>, Т.В. АМВРОСЬЕВА<sup>1</sup>, З.Ф. БОГУШ<sup>1</sup>, Ю. А. ШИЛОВА<sup>1</sup>, Ю. Б. КОЛТУНОВА<sup>1</sup>,  
А. М. ДАШКЕВИЧ<sup>2</sup>, В.В. ЗАПОЛЬСКАЯ<sup>2</sup>, Е.П. КИШКУРНО<sup>3</sup>**<sup>1</sup>ГУ Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь<sup>2</sup>ГУ Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минск, Беларусь<sup>3</sup>Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, Минск, Беларусь

\*labsanvir@gmail.com

**АННОТАЦИЯ**

Энтеровирусы (ЭВ) – широко распространенные вирусные агенты, регулярно вызывающие эпидемические подъемы и вспышки заболеваний, которые характеризуются многообразием клинических проявлений. Целью представленной работы было изучение фено- и генотипического многообразия неполиомиелитных ЭВ, циркулировавших с 2003 по 2022 г. в нашей стране на фоне подъемов и спадов заболеваемости энтеровирусными инфекциями (ЭВИ). Установлено, что за этот период имела место циркуляция 44 различных типов ЭВ, принадлежащих к видам *Enterovirus B* (97,8%), *Enterovirus A* (1,88%), *Enterovirus C* (0,9%), *Enterovirus D* (0,4%). Среди вирусов вида *Enterovirus B* преобладали изоляты типов Коксаки В5, ЕСНО 30, ЕСНО11. В годы эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ достоверно чаще идентифицировались вирусы ЕСНО 30, ЕСНО 9 и ЕСНО 11 ( $p < 0,001$ ), тогда как в годы эпидемического благополучия чаще выявлялись вирусы Коксаки В1, В2, В3 и В4 ( $p < 0,001$ ). Вирусы ЕСНО 6 и Коксаки В5 регистрировались как в периоды эпидемических подъемов, так и спадов заболеваемости и характеризовались максимальным внутритиповым генетическим разнообразием, существенно большим, чем ЕСНО30, ЕСНО6 и ЕСНО 11 ( $p < 0,05$ ). За период наблюдения на территории Беларуси идентифицировано 9 геновариантов ЕСНО 30, 6 геновариантов ЕСНО 9, 3 геноварианта ЕСНО 11, 6 геновариантов ЕСНО 6 и 13 геновариантов Коксаки В5. Анализ генетического разнообразия вирусов ЕСНО 30, 9, 11, 6, Коксаки В5 показал, что подъемы заболеваемости ЭВИ сопровождались максимальным количеством обнаруживаемых геновариантов, причем часть из них была новой для населения страны.

Полученные данные свидетельствуют о многофакторности формирования эпидемического процесса и значительного вклада в его формирование генетического многообразия возбудителей.

**Ключевые слова:** энтеровирус, генетическое разнообразие, эпидемический подъем, генотип, геновариант.

**ВВЕДЕНИЕ**

По современной классификации к роду *Enterovirus* принадлежит 15 видов вирусов, патогенных для человека и животных, в том числе - патогенные для человека виды *Enterovirus A-D* [1]. В пределах этих видов выделяют отдельные типы энтеровирусов (ЭВ), для которых ранее использовали термин «серотип» в связи с их идентификацией в реакции нейтрализации. Однако в настоящее время идентификация типов ЭВ основана на анализе нуклеотидной и/или аминокислотной последовательности основного капсидного белка. В этой связи термин «серотип» считается устаревшим [2]. В состав вида *Enterovirus A* входят типы Коксаки А2-8, 10, 12, 14, 16, Энтеровирус А71, 76, 89-92, 114, 119, 120, вида *Enterovirus B* – типы Коксаки В1-6, ЕСНО 1-9, 11-21, 24-33, Энтеровирус В69, 73-75, 77-82, 84-88, 93, 97, 98, 100, 101, 106, 107, 110-113, вида *Enterovirus C* – Полиовирус 1-3, Коксаки А1, 11, 13, 17, 19, 20-22, 24, Энтеровирус С95, 96, 99, 102, 104, 105, 109, 113, 116, 117, 118, вида *Enterovirus D* - Энтеровирус D68, 70, 94, 111, 120 [1].

Предметом настоящих исследований были неполиомиелитные энтеровирусы (ЭВ) человека, принадлежащие видам *Enterovirus A-D*. С точки зрения биологии, ЭВ являются кишечными вирусами, поскольку местом их первичной репликации является кишечник, а основной механизм передачи инфекции – фекально-оральный. Вместе с тем, они характеризуются чрезвычайно высокой генетиче-

ской вариабельностью, что влечет за собой их значительное фенотипическое разнообразие, в том числе – способность использовать различные клеточные рецепторы, чем обусловлена пантропность ЭВ и широкий спектр вызываемых ими клинических форм инфекции. В ряде случаев определенные типы ЭВ чаще являются причиной определенных форм энтеровирусной инфекции (ЭВИ). Вместе с тем, одна и та же клиническая форма может быть вызвана различными типами вирусов, а один и тот же тип может вызывать разные клинические формы инфекции. Учитывая широкое разнообразие ЭВ и многоликую роль в заболеваемости, изучение типового состава их популяции на конкретной территории является сегодня актуальным направлением исследований, основная цель которых состоит в отслеживании циркуляции эпидемически значимых геновариантов для прогнозирования возможных сценариев развития эпидемиологической ситуации по ЭВИ.

В Беларуси регулярный эпидемиологический надзор и регистрация ЭВИ начались после того, как в 2003 г. в Минске произошла достаточно крупная вспышка энтеровирусного серозного менингита [3].

Целью настоящих исследований было изучение фено- и генотипического многообразия ЭВ, циркулировавших с 2003 по 2021 г. в нашей стране на фоне подъемов и спадов заболеваемости ЭВИ.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Исследовано 1382 изолята ЭВ, обнаруженных в период с 2003 по 2021 г. Выделение ЭВ проводили в культурах клеток RD, BGM, Нер-2С по стандартной методике. Идентификацию выделенных ЦПА проводили с помощью реакции нейтрализации микрометодом с использованием панели коммерческих иммунных группо- и типоспецифических в отношении ЭВ сывороток производства НИИ полиомиелита и вирусных энцефалитов (г. Москва) [4, 5].

Детекцию ЭВ методом ОТ-ПЦР проводили с использованием различных методик, разработанных в лаборатории [5, 6], а также коммерческих тест-систем АмплиСенс® Enterovirus-FL (Россия), «Тест-система для выявления энтеровирусов методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов реакции «ЭВ-ПЦР», РНК из проб выделяли набором «НК-экстра» (все – производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь). Определение нуклеотидной последовательности полного гена VP1, или его фрагмента осуществляли с несколькими комплектами праймеров [7]. Секвенирование ДНК проводили методом терминации цепи с последующим анализом на ДНК-анализаторе SEQ8000. Всего было проведено секвенирование и получены нуклеотидные последовательности 483 изолятов ЭВ за период с 1997 по 2022 гг.

Компьютерный анализ последовательностей (множественное выравнивание, определение эволюционных расстояний, филогенетическую реконструкцию и определение достоверности ее топологии) выполняли с помощью программного продукта MEGA (Molecular evolutionary genetics analysis) версии 7.0 [8]

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

На основе использования вирусологических и молекулярно-биологических методов идентифицированы типы 1382 изолятов ЭВ (рисунок 1). В период наблюдения установлена циркуляция 44 различных ЭВ, среди которых преобладали возбудители, принадлежащие к виду *Enterovirus B* (97,8%). Вирусы вида *Enterovirus A* составили 1,88%, вида *Enterovirus C* – 0,9%. Только 5 изолятов

относились к виду *Enterovirus D*, и все они принадлежали к типу Энтеровирус D70. Среди вирусов вида *Enterovirus B* преобладали Коксаки В5 (22,0% [19,7%; 24,7%]), ЕСНО 30 (12,0% [10,3; 14,0%]), ЕСНО11 (11,9% [10,2%; 13,9%]), ЕСНО13 (9,1% [7,7%; 9,9%]), Коксаки В3 (7,8% [6,4%; 9,4%]) и ряд других.

По данным осуществляемого в нашей стране эпидемиологического мониторинга, заболеваемость ЭВИ на территории республики характеризовалась периодами эпидемических подъемов в течение 1-2 лет и последующих спадов, которые чередовались каждые 2-3 года. Подъемы заболеваемости регистрировались в 2003, 2006, 2009, 2013-2014, 2016-2017 годах. Опираясь на эти данные, нами проанализирован типовой состав ЭВ (рисунок 2), выявленных в годы эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ (n=521) и периоды относительного благополучия (n=447).

Сравнение доли изолятов одного и того же типа, идентифицированных в указанные периоды заболеваемости, показало, что в годы роста ЭВИ достоверно чаще циркулировали вирусы ЕСНО 30 (25,5% и 2,2%, соответственно, p<0,001), ЕСНО 9 (3,6% и 0,6%, соответственно, p=0,002) и ЕСНО 11 (10,2% и 1,3%, соответственно, p<0,001). В годы эпидемического благополучия достоверно чаще регистрировались вирусы Коксаки В1, В2, В3 и В4 (p<0,001). Вирусы ЕСНО 6 и Коксаки В5 были распространены чрезвычайно широко и часто выявлялись как в спокойные периоды, так и в годы подъемов заболеваемости.

В отношении доминирующих в периоды эпидемических подъемов заболеваемости типов ЭВ – ЕСНО30 (n=86), ЕСНО9 (n=21) и ЕСНО11 (n=26), а также в отношении преобладающих как в периоды подъемов, так и спадов заболеваемости ЭВ - ЕСНО6 (n=51) и Коксаки В5 (n=132) - проводили дальнейшую их идентификацию до генотипов (генотипирование).

Выполненные исследования показали, что в пределах типов изоляты ЭВ формировали геноварианты (кластеры), внутри которых генетическое расстояние было достоверно меньшим, чем между ними (рисунок 3, 4,

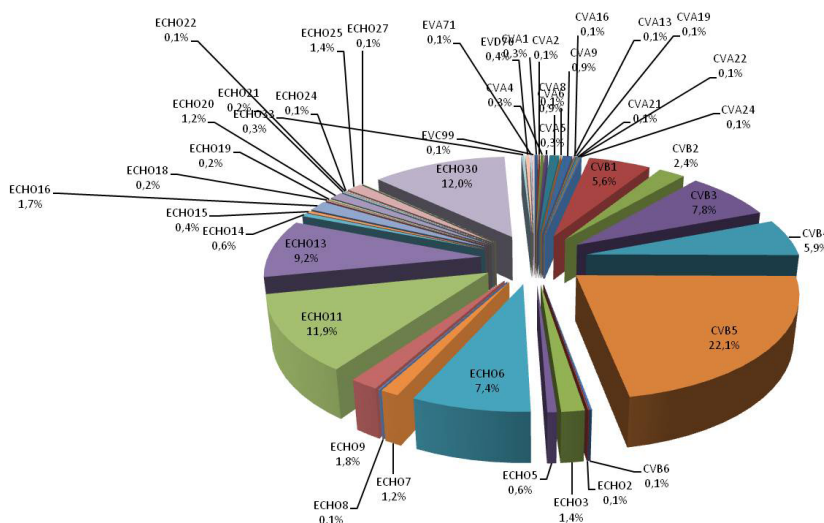


Рисунок 1 – Спектр и доля различных типов энтеровирусов, идентифицированных в Республике Беларусь в 2003-2022

$p < 0,001$ ). Вирусы ЕСНО 30 формировали 9 геновариантов – E30A-E30I (рисунок 4), среднее генетическое расстояние внутри которых составляло  $0,01 \pm 0,007$ , между ними -  $0,113 \pm 0,026$  (рисунок 3); ЕСНО9 – 6 геновариантов E9A-E9F (рисунок 4), среднее генетическое расстояние внутри них -  $0,023 \pm 0,016$ , между ними -  $0,153 \pm 0,034$  (рисунок 3); ЕСНО11 – 3 геноварианта E11A-E11C (рисунок 4), среднее генетическое расстояние внутри них -  $0,018 \pm 0,009$ , между ними -  $0,159 \pm 0,029$  (рисунок 3); ЕСНО6 – 8 геновариантов E6A-E6H (рисунок 4), среднее генетическое расстояние внутри них -  $0,024 \pm 0,014$ , между ними -  $0,158 \pm 0,05$  (рисунок 3); Коксаки В5 – 13 геновариантов CVB5A-CVB5M (рисунок 4), среднее генетическое расстояние внутри них -  $0,017 \pm 0,012$ , между ними -  $0,169 \pm 0,055$  (рисунок 3).

Степень генетического разнообразия различных типов ЭВ, циркулирующих в Беларуси, может быть охарактеризована максимальным генетическим расстоянием между изолятами одного типа. Из рисунка 3 видно, что наиболее активно циркулировавшие типы ЭВ - ЕСНО6 и Коксаки В5, которые обнаруживались как в периоды подъемов, так и спадов заболеваемости, характеризовались достоверно большим внутритиповым генетическим разнообразием (максимальное генетическое расстояние -  $0,272 \pm 0,023$  и  $0,27 \pm 0,021$ , соответственно), чем типы ЕСНО30, ЕСНО6 и ЕСНО 11 (максимальное генетическое расстояние -  $0,18 \pm 0,023$ ,  $0,206 \pm 0,025$  и  $0,219 \pm 0,027$ , соответственно), которые преобладали в периоды эпидподъемов.

Согласно результатам филогенетической реконструкции (рисунок 4) практически все геноварианты досто-

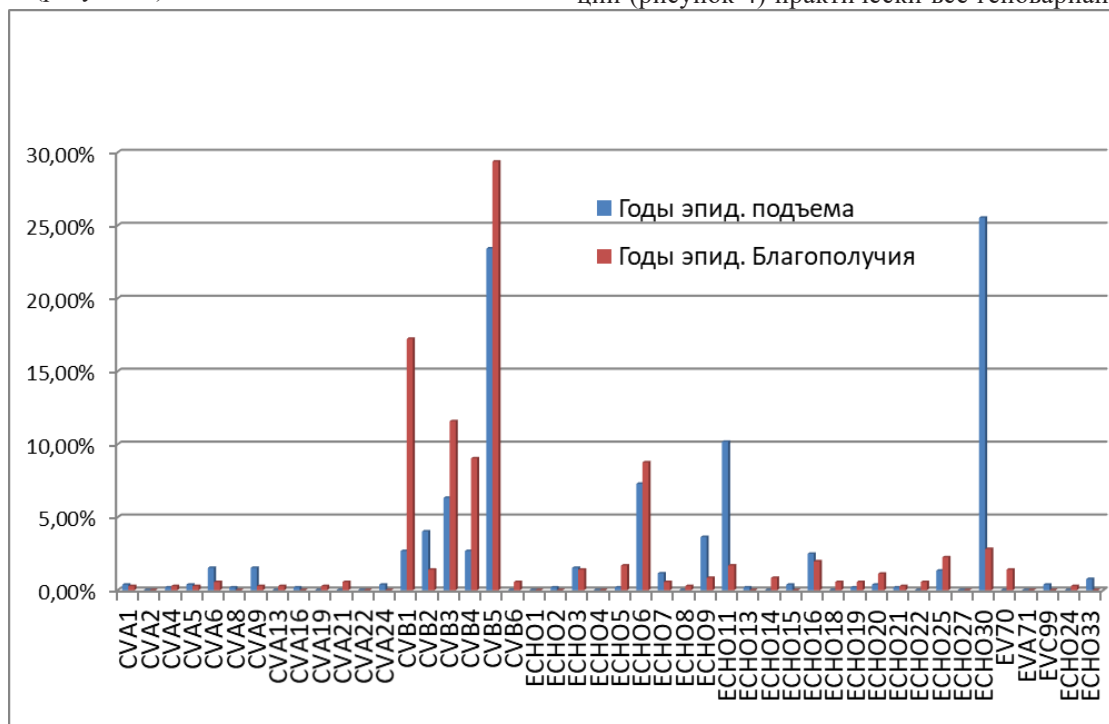


Рисунок 2 – Частота обнаружения различных типов ЭВ в годы эпидемических подъемов и спадов заболеваемости ЭВИ

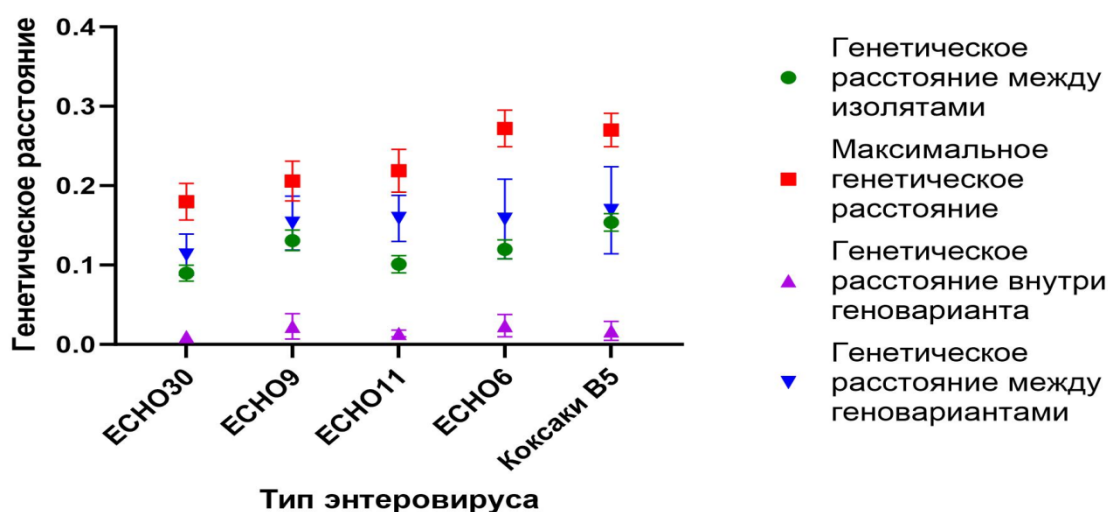


Рисунок 3 – Среднее генетическое расстояние между изолятами, максимальное генетическое расстояние между изолятами, среднее генетическое расстояние внутри геноварианта и между геновариантами ЕСНО30, 9, 11, 6 и Коксаки В5

верно формировали монофилетические кластеры, что свидетельствовало не только о значительном сходстве между изолятами одного геноварианта, но и об их эволюционной близкородственности. Часть кластеров помимо белорусских изолятов включала вирусы, циркулировавшие в других странах, что дает возможность оценивать географическое распространение разных геновариантов ЭВ. В представленной филогенетической реконструкции не использовали молекулярные часы, позволяющие оценивать

направление распространения геновариантов. Однако на основании анализа дат их идентификации в разных странах можно сделать обоснованные предположения об этом процессе.

Вирус ЕСНО 30 был представлен 9 геновариантами, 6 из которых идентифицированы в период наблюдения с 2003 по 2022, а три были выделены на территории республики ранее – в 1997 г. и 2002 г. Для большинства геновариантов ЕСНО 30 была характерна последовательная

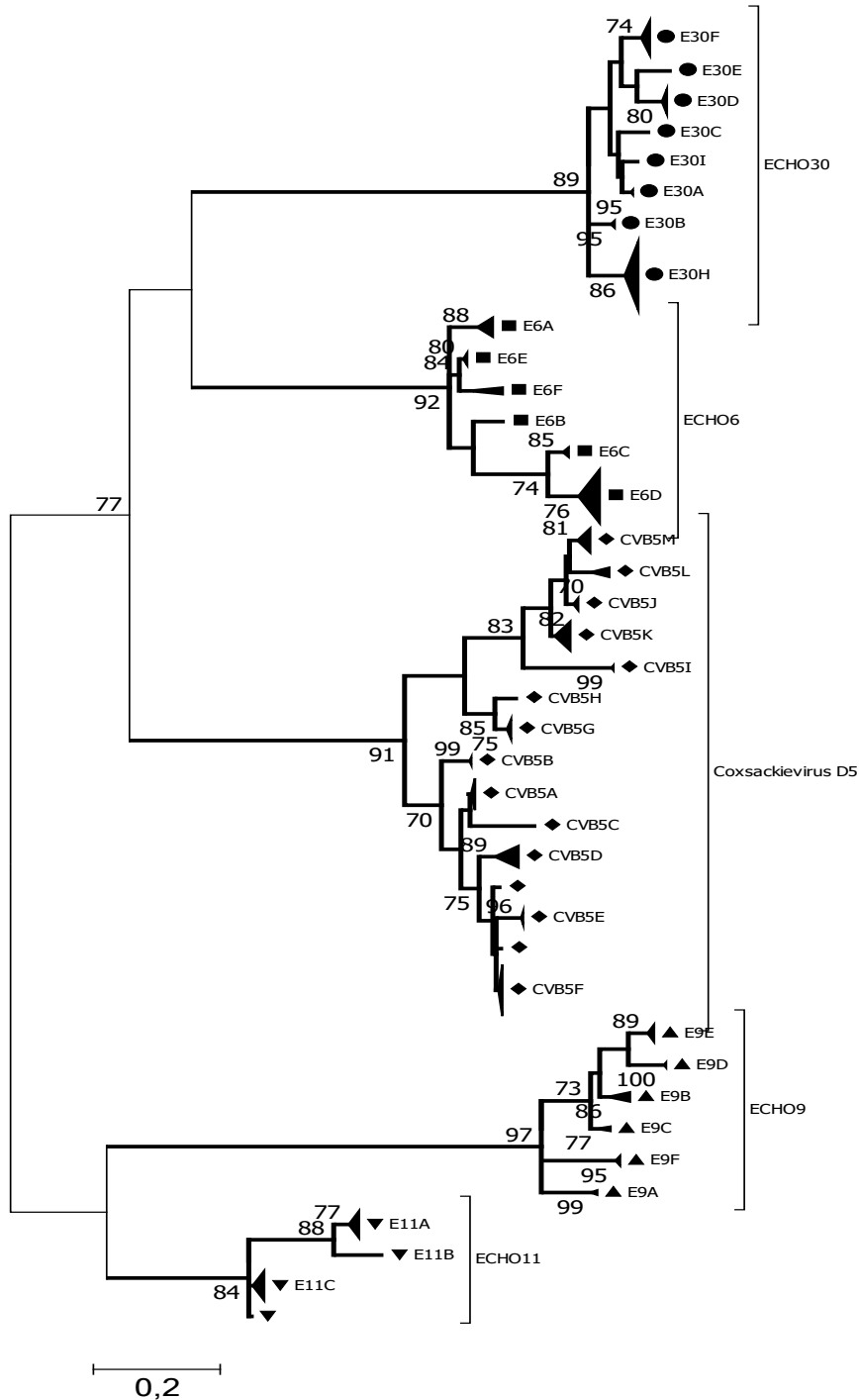


Рисунок 4 – Филогенетическая реконструкция на основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента капсидного белка VP1 (230 нт) 316 изолятов ЭВ типов ЕСНО30, 9,11,6 и Коксаки В5, выделенных на территории Беларуси в 1997-2022. Для реконструкции использовали метод максимального правдоподобия, основанного на общей обратимой во времени модели нуклеотидных замен. Представлено древо с наибольшим значением правдоподобия (log 5731,66). В узлах древа - процент деревьев, на которых связанные таксоны сгруппированы вместе. Для моделирования различий в скорости эволюции между участками использовали дискретное гамма-распределение (5 категорий (+G, параметр = 1,0680)). Длина ветвей соответствует количеству замен на сайт. Внизу слева – шкала генетического расстояния.

смена циркуляции одного другим, за исключением геновариантов E30A и E30B, которые циркулировали одновременно во время вспышки серозного менингита в 1997 г.

При этом геновариант E30A активно циркулировал в странах Западной Европы в 1995-1997 и, по-видимому, попал на территорию Беларуси с запада, тогда как циркулировавший вместе с ним в Беларуси геновариант E30B до этого в других странах обнаружен не был, а в последующие годы распространился из нашей страны на юг и обнаруживался на территории Украины в 1999-2000 гг. Геновариант E30I был идентифицирован в Беларуси в 2002 г., до этого в 1996 г. циркулировал во Франции, в 2002 - 2003 гг. – в России. Крупнейшую вспышку серозного менингита вызвал в нашей стране геновариант E30F в 2003. Ранее он не был выявлен ни в одной стране мира, а после распространился по территории европейских стран и обнаруживался в Финляндии в 2004 г. и в Польше в 2005 г.

В 2007 г. в Беларуси была зарегистрирована циркуляция нового геноварианта E30C, однако его циркуляция не сопровождалась значительным подъемом заболеваемости. Данный геновариант обнаруживался в 2004 г. на территории России. В 2009 г. появился еще один геновариант E30E, распространившийся впоследствии на территорию России – его изоляты были идентифицированы там в 2010.

Геновариант E30H появился в Беларуси в 2012 г. и циркулировал вплоть до 2014 г., впоследствии он циркулировал в различных европейских странах – Нидерландах, Великобритании (2016 г.). Весьма сходный с ним, но группирующийся отдельно геновариант E30G циркулировал в нашей стране 2017-2018 гг. В тот же период он получил глобальное распространение и регистрировался в 2017г. в Дании, Бразилии, США, Новой Зеландии.

Последний идентифицированный геновариант – E30D появился в Беларуси в 2018 г. и продолжал циркулировать вплоть до 2021 г. Он, вероятнее всего, был занесен к нам из Западной Европы, где регистрировался в 2017 г. на территории ряда стран – Дании, Чехии, Нидерландов.

Изоляты ЕСНО 9, циркулировавшие в Беларуси в период наблюдения, формировали 6 геновариантов: E9A – E9F. Геновариант E9B обнаруживался на протяжении 8 лет – с 2009 г. по 2016 г., причем в 2009 г. он выявлялся также в России, а впоследствии – только в Беларуси. Остальные геноварианты ЕСНО9 регистрировались только в течение одного-двух эпидсезонов. Геновариант E9A был зарегистрирован в 2009 г., в том же году он циркулировал в Дании, в 2011 г. – в Нидерландах. Геновариант E9C до появления в 2016-2017 гг. в Беларуси не регистрировался в других странах, впоследствии в 2018 г. циркулировал в Венгрии. Геновариант E9D, выявленный в Беларуси в 2014 г., вероятнее всего попал к нам в страну из западной Европы, так как в 2012г. он регистрировался во Франции, в 2014 г. – в Греции. Геновариант E9E в 2016 г. циркулировал в Беларуси и России, до этого в других странах не выявлялся. Геновариант E9F, по-видимому, был занесен из Европы (регистрировался в Нидерландах в 2014 г.).

Обнаруженные в наших исследованиях вирусы ЕСНО 6 объединялись в составе 6 геновариантов, 2 из которых

- E6A и E6D циркулировали в течение довольно длительного времени, тогда как остальные 4 регистрировались только 1-2 эпидсезона и совпадали с периодами эпидемических подъемов заболеваемости. Геновариант E6A встречался на территории нашей страны с 2001 по 2007 годы. В 1999 г. он регистрировался в России, в 2003 г. – в Эстонии. Геновариант E6D впервые был идентифицирован в стране в 2014 г., но наиболее активно циркулировал в 2017-2018 гг. Геноварианты E6B и E6C регистрировались только в периоды эпидемических подъемов в 2006-2007 гг., а E6E, E6F – в 2013-2014 гг. Геноварианты E6B и E6C до появления в Беларуси не обнаруживались в других странах мира. Так, E6B циркулировал одновременно в Беларуси и в Финляндии в 2007 г., а E6C появился в Беларуси в 2006 г. (в 2007 г. он регистрировался в Эстонии, в 2008 г. – в России). Геноварианты E6E, E6F появились в Беларуси в 2013 г. (E6E) и 2014 г. (E6F). Они однозначно были занесены в нашу страну из других регионов, так как их циркуляция регистрировалась в других странах до появления в Беларуси: E6E - в Китае в 2011 г. и в Польше в 2012, E6F – в Китае в 2010-2013 гг.

Тип ЕСНО 11 был представлен тремя геновариантами – E11A–E11C. Геновариант E11A, по-видимому, был эндемичным для нашей страны, так как обнаруживался только на территории Беларуси в течение почти 20 лет - с 1997 г. по 2015 г. Геновариант E11B регистрировался в Беларуси в 2006г. и 2013 г., геновариант E11C обнаруживался в нашей стране только во время эпидемического подъема в 2013-2014 гг. и, по-видимому, был занесен из Франции, где циркулировал в 2012 г.

Тип Коксаки B5 был наиболее многочисленным и часто встречающимся среди ЭВ на протяжении всего периода наблюдений. Его популяция была наиболее генетически разнообразной - в пределах этого типа идентифицировано 13 геновариантов, которые имели совершенно разные паттерны циркуляции. Ранее было показано, что Коксаки B5 разделяется на 2 различные генетические линии – CVB5-I и CVB5-II, каждая из которых имеет свой прототипный штамм [20]. В пределах CVB5-I, циркулировавших в Беларуси, идентифицировано 7 геновариантов – CVB5G-CVB5M, а CVB5-II включал 6 геновариантов – CVB5A – CVB5F. Два геноварианта имели идентичный паттерн циркуляции, ранее не встречавшийся у других типов: геноварианты CVB5J (генетическая линия CVB5-I) и CVB5A (генетическая линия CVB5-II) появились в Беларуси в 2005 г. и 2006 г., соответственно, и были занесены, по видимому, из Франции, так как в других странах не выявлялись. Затем они исчезли из циркуляции и вновь обнаруживались в 2015-2016 гг. и в 2016-2022 гг, соответственно. Анализ времени и географии распространения показал, что появление многих геновариантов CVB5 стало следствием заносов из других стран. Так, геновариант CVB5M циркулировал в Беларуси в 2012-2014 гг. и был занесен из Китая, где регистрировался в 2010 г. Геновариант CVB5K обнаруживался в Беларуси в 2012 г., 2018 г. и также, вероятно, был занесен из Китая, где встречался в 2012 г., а на Тайвани – в 2011 г. Геновариант CVB5I циркулировал в Беларуси в 2017 г. и, скорее всего, был занесен из Турции, где обнаруживался в 2016 г. Геновариант CVB5G регистрировался в нашей

стране в 2006 г., куда попал из Вьетнама, где циркулировал в 2004 г. Геновариант CVB5C, циркулировавший в 2017-2018 гг. в Беларуси, встречался до этого во Франции в 2015 г. CVB5D, который регистрировался у нас в стране в 2012-2014 гг., также ранее обнаруживался во Франции (в 2011 г.). Геновариант CVB5E, циркулировавший в Беларуси в 2016 г., был выявлен во Франции годом ранее. Геновариант CVB5F, который активно регистрировался в республике в 2018-2020 гг. видимо, так же попал к нам из Западной Европы (встречался в Италии в 2016 г., в Австрии – в 2017 г.). Следует отметить, что в пределах типа Коксаки B5 идентифицированы также геноварианты, которые до появления в нашей стране не выявлялись в других регионах, но были зарегистрированы одновременно, или распространились в другие страны позднее. Так, геновариант CVB5B, который был идентифицирован в Беларуси во время вспышки серозного менингита в 2003 г, до этого не выявлялся в других странах, одновременно был зарегистрирован в Дании (2003 г.) и Швеции (2004 г.). Геновариант CVB5L в 2017 г. обнаруживался в Беларуси и в Китае. Геновариант CVB5H в 1998 г. выявлен в Беларуси, в 1999 г. – в Польше.

В рамках изучения закономерности появления, длительности циркуляции и периодичности смены различных геновариантов ЭВ с течением времени, нами был прове-

ден анализ циркулирующих генотипов и уровней заболеваемости, результаты которого представлены на рисунке 5. Установлено, что подъемы заболеваемости ЭВИ сопровождался максимальным генетическим разнообразием циркулирующих ЭВ – одновременно регистрировались четыре и более геновариантов «эпидемических» типов, причем часть из них обязательно была новой для населения страны. Так, в 2003 г. циркулировало 4 геноварианта, в том числе E30F, CVB5B и E6H являлись новыми для населения страны. В 2006 г. циркулировало по 2 геноварианта Коксаки B5 (CVB5A, CVB5G), ECHO 6 (E6A, E6C) и 11 (E11A, E11B), в 2009 г. – 2 геноварианта ECHO9 (E9A, E9B), новый геновариант ECHO30 (E30E) и продолжалась циркуляция геноварианта E11A. В 2012-2014 гг. появилось 3 новых геноварианта Коксаки B5 – CVB5D, CVB5K, CVB5M, новый геновариант ECHO 30 – E30H, 4 новых геноварианта ECHO6 – E6D, E6E, E6F, E6G, по 1 новому геноварианту ECHO 9 и ECHO 11 (E9D и E11C, соответственно). В 2016-2018 гг. наблюдалось максимальное разнообразие одновременно циркулирующих геновариантов – 8 геновариантов Коксаки B5, 4 из которых были новыми – CVB5E, CVB5C, CVB5F, CVB5L, 4 геноварианта ECHO9, 3 из которых были новыми – E9C, E9E, E9F, 2 новых геноварианта ECHO30 – E30G, E30.

С другой стороны, часть геновариантов обнаружива-

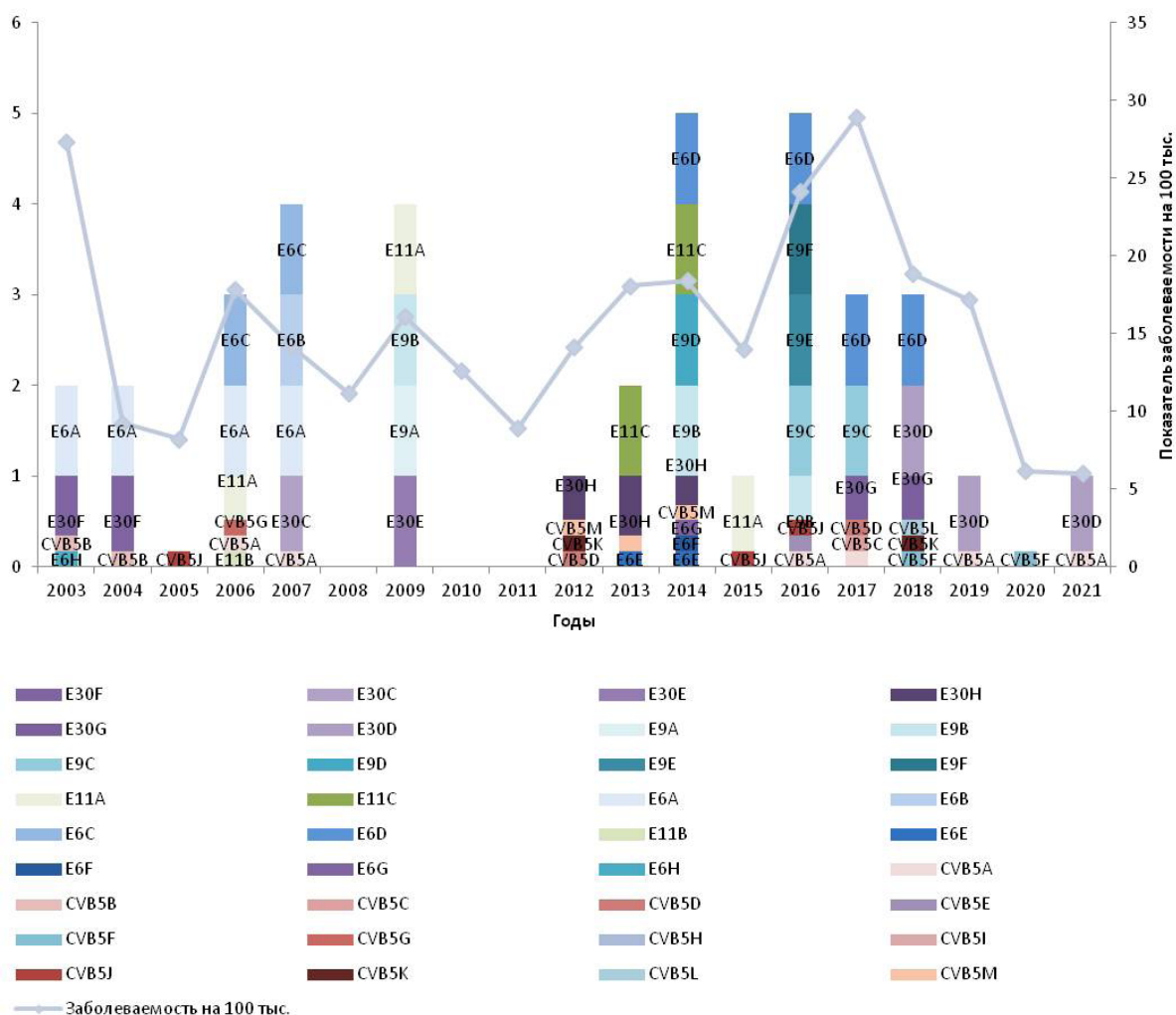


Рисунок 5 – Распределение различных геновариантов ECHO 30, 9, 11, 6 и Коксаки B5 по годам.

лась на протяжении 10-15 лет, периодически исчезая и вновь появляясь. Можно предположить, что геноварианты, которые циркулировали в течение длительного времени, являются эндемичными для нашей страны. Периоды их активной циркуляции связаны с накоплением достаточного количества неиммунного контингента детей, после чего интенсивность их циркуляции снижается и они перестают выявляться. К таким геновариантам можно отнести CVB5A (2006-2007, 2016-2017, 2019-2022), CVB5J (2005, 2015, 2016), ЕСНО11А (1997, 2008, 2009, 2015). Именно эти геноварианты циркулировали в годы снижения заболеваемости ЭВИ – 2005, 2008, 2015, 2019-2021.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Представленные в работе результаты, характеризующие фенотипическое разнообразие циркулирующих в Беларуси ЭВ, полностью совпадают с данными многолетнего мониторинга типового многообразия ЭВ в других европейских странах [9, 10] и, по-видимому, отражают типовую структуру ЭВ и вклад в заболеваемость в европейском регионе.

Среди типов ЭВ, которые были проанализированы в данной статье, особую эпидемическую значимость имеет вирус ЕСНО30 – широко распространенный этиологический агент серозного менингита, который регулярно вызывает массовые вспышки в разных странах мира. Существует достаточно много исследований молекулярной эпидемиологии ЕСНО 30, как на территории отдельных стран, так и в глобальном масштабе [11-13]. В рамках типа идентифицированы 3 геногруппы ЕСНО30, одна из которых (G30GI) прекратила свою циркуляцию в 60х годах прошлого века, вторая (E30GII) включает большинство циркулирующих на сегодняшний день вирусов [15], а третья (E30GIII) была идентифицирована совсем недавно – в 2021 на основании значительного генетического расстояния (среднее генетическое расхождение - 19-21%), отделяющего входящие в нее изоляты ЕСНО30 [11]. Большинство исследователей выделяют 9 генотипов ЕСНО30 внутри геногрупп [11-13], однако единая универсальная классификация, разделяющая их, а также единое обозначение генотипов отсутствует. Сравнение наших данных с результатами ранее проведенных исследований показало, что идентифицированные на территории Беларуси геноварианты вирусов входили в 3 ранее известных генотипа – ЕСНО30-Е, F, Н.

К генотипу ЕСНО30-Е принадлежали геноварианты E30F, E30E и E30D. Геновариант E30F, вызвавший вспышку серозного менингита в Минске в 2003 являлся фактически тупиковой ветвью – дальнейшее распространение его в значительном масштабе на территории других стран не происходило. Геноварианты E30E и E30D принадлежали к доминировавшей в 2016-2018 и вызвавшей значительный подъем заболеваемости в Европе генетической линии вируса ЕСНО30, обозначенной авторами, как G1 [11]. Геновариант E30E, циркулировавший в 2009 в Беларуси, относился к G1b, а геновариант E30D, циркулировавший в нашей стране с 2018 по 2021 – к генетической линии G1a.

Генотип ЕСНО30-F был представлен также 3 геновариантами ЕСНО30, циркулировавшими в Беларуси –

E30C (2007), E30I (2002) и E30A (1997). Идентифицированные нами 3 геноварианта соответствуют субгруппам 1-3, выделенным другими авторами. Геновариант E30A принадлежит к ветви генотипа ЕСНО30-F, которая активно циркулировала в 1994-1997 в странах Европы, тогда как геноварианты E30C и E30I имеют гипотетических общих предков с изолятами, циркулировавшими в те же годы в России [12].

Определенный интерес представляют белорусские геноварианты E30V (1997) и E30H (2012-2014), принадлежащие генотипу ЕСНО30-Н. Результаты изучения глобальной филодинамики [12] свидетельствуют о том, что геновариант E30V фактически дал начало новому генотипу ЕСНО30 – он был выделен во время вспышки серозного менингита в г. Гомеле в 1997 вместе с геновариантом E30A генотипа ЕСНО30-F. Причем, если E30A принадлежал к известному генотипу и попал к нам из Западной Европы, то E30V не встречался нигде в мире до 1997 и впоследствии распространился на территорию различных стран Европы и Азии. Аналогичная ситуация, когда причиной вспышки являются 2 совершенно различных и эволюционно удаленных друг от друга геноварианта ЕСНО30 имела место в 2018 в Европе [11]. Геновариант E30H, циркулировавший в 2012-2014 в нашей стране был чрезвычайно близкородственен европейскому геноварианту G4b, который циркулировал в 2016-2017, а геновариант E30G, циркулировавший в 2016-2017 в Беларуси, был практически идентичен изолятам из Дании, принадлежавшим также G4, но не входившим ни в G4a, ни в G4b кластер. Таким образом, белорусские геноварианты E30H, циркулировавший в 2012-2014, и E30G, идентифицированный в 2016-2017, скорее всего не имели ближайшего гипотетического общего предка, а их распространение происходило следующим образом: геновариант E30H был занесен в Беларусь с Востока, так как изоляты этого геноварианта были идентифицированы в Китае в 2010-2011 распространился через Польшу (2013, 2014) и Украину (2016) на территорию Европы, циркулировал какое-то время, а потом был занесен к нам в 2017 уже в виде геноварианта E30G.

Вирус ЕСНО6, который был включен в представленный анализ, относится к типам ЭВ, вместе с Коксаки В5, которые обнаруживались как в периоды подъемов заболеваемости ЭВИ, так и в годы эпидемического благополучия. Анализ циркуляции различных геновариантов ЕСНО6 свидетельствовал о том, что часть из них являлась эндемичными, циркулируя в течение длительного времени (Е6А, Е6D), тогда как другие сменяли друг друга через короткие периоды и более вероятно были связаны с заносами и ростом заболеваемости. Аналогичная закономерность была обнаружена испанскими исследователями [15]. Кроме того, параллельная циркуляция нескольких геновариантов ЕСНО6, обнаруженная нами, также регулярно регистрировалась на территории других стран [16], что указывает на достаточную распространенность данного явления. Исследования, посвященные глобальной филогенетической реконструкции ЕСНО6 также проводились различными авторами, хотя и в значительно меньшем объеме, чем в отношении ЕСНО30 [15-17]. Проведение филогенетической реконструкции с использованием

зарубежных штаммов различных геногрупп, генотипов и субтипов ЕСНО6 позволило определить, что все идентифицированные на территории Беларуси изоляты ЕСНО6 принадлежали к двум генотипам одной генетической линии – ЕСНО6-С9 и ЕСНО6-С1. Геноварианты Е6А, Е6В, Е6Е и Е6F принадлежали генотипу ЕСНО6-С9, причем геновариант Е6А входил в субтип ЕСНО6-С9g, геновариант Е6В – в субтип ЕСНО6-С9f, а геноварианты Е6Е и Е6F – в субтип ЕСНО6-С9с. Геноварианты Е6С и Е6D, идентифицированные в представленной работе, относились к генотипу ЕСНО6-С1.

Вирус Коксаки В5 является одним из самых широко распространенных типов ЭВ в мире и доминирующим – на территории нашей страны. Практически во всех странах, проводивших исследования генетического многообразия ЭВ, данный тип входит в 5 преобладающих – Германии, Испании, Франции, Бразилии, США, Китае и других [18-19]. Вирус Коксаки В5 является чрезвычайно генетически вариабельным и циркулирующие в настоящее время изоляты принадлежат к двум разным генетическим линиям вируса, имеющим разные прототипные штаммы [20]. Сравнение геновариантов Коксаки В5, идентифицированных в Беларуси, с ранее определенными геногруппами и генотипами вируса показало, что 7 белорусских геновариантов принадлежало к генетической линии А (I): геноварианты CVB5M, CVB5L – к генотипу CVB5-A4d, геновариант CVB5J – к генотипу CVB5-A4a, геновариант CVB5K – к генотипу CVB5-A4с, геновариант CVB5I – к генотипу CVB5-A3с, геноварианты CVB5H и CVB5G – к генотипу CVB5-A1. Еще 6 геновариантов, идентифицированных в нашей стране, относились к генетической линии В (II): геновариант CVB5B – к генотипу CVB5-B1с, геновариант CVB5A – к генотипу CVB5-B2a, геновариант CVB5C – к генотипу CVB5-B4, геноварианты CVB5D, CVB5E, CVB5F – к генотипу CVB5-B3. Интересно, что анализ временного и географического распределения различных геновариантов Коксаки В5 в разных странах обнаруживал некоторые различия. Так, исследования, проведенные в Бразилии показали, что геногруппа В циркулировала в этой стране до 2016, а в последующем на смену ей пришла геногруппа А [22]. Результаты молекулярно-эпидемиологических исследований в Италии свидетельствовали о том, что, наоборот, на территории страны преимущественно циркулировала геногруппа В [23]. Результаты, полученные нами, показали, что в нашей стране в течение всего периода наблюдения параллельно циркулировали две геногруппы вируса Коксаки В, периодически сменяя одна другую, а в 2006, 2012, 2016 и 2018 имела место одновременная циркуляция двух геногрупп Коксаки В5. Анализ, проведенный французскими исследователями, показал, что паттерны циркуляции геногрупп Коксаки В5А и Коксаки В5В отличаются также, как вирусов гриппа А и В: для геногруппы Коксаки В5А характерна параллельная эволюция различных генотипов, тогда как эволюция Коксаки В5В характеризуется последовательной сменой одного генотипа другим. Тем не менее, полученные нами результаты, указывают на то, что в масштабе нашей страны временные паттерны циркуляции разных геногрупп не имеют отличий. В каждой из геногрупп были геноварианты, имеющие эндемичный характер циркуляции: геновариант CVB5J (геногруппа А)

и геновариант CVB5A (геногруппа В) обнаруживались на протяжении 10-15 лет параллельно с другими геновариантами. Так же в каждой из геногрупп были геноварианты с эпидемическим характером циркуляции, которые появлялись, циркулировали 1-2 года и сменялись новыми. К таким геновариантам можно отнести CVB5B, CVB5D, CVB5E, CVB5C, CVB5F (геногруппа В), а также CVB5G, CVB5L (геногруппа А).

Вирус ЕСНО9 относится к широко распространенным и доминирующим во многих странах типам ЭВ. Он часто вызывает серозный менингит и другие неврологические формы ЭВИ. По результатам ранее проведенных нами исследований именно данный тип был причиной роста заболеваемости энтеровирусным менингитом в 2016 г. [24]. Тогда же была установлена параллельная циркуляция 4 различных геновариантов ЕСНО9. Результаты более ранних исследований зарубежных авторов показали, что в глобальном масштабе можно выделить различные геногруппы и генотипы ЕСНО9 [25,26]. По результатам сравнения установлено, что белорусский геновариант Е9А принадлежал к геногруппе II [25], генотип ЕСНО9-F, остальные 5 – к геногруппе I [25]. Среди них геновариант Е9F входил в генотип ЕСНО9-Е [26], геноварианты Е9С и Е9В – в генотип ЕСНО9-С [26], а геноварианты Е9Е и Е9D не удалось отнести к ранее идентифицированным генотипам. Вирус ЕСНО9 был причиной многочисленных вспышек в разных странах мира. Рост заболеваемости серозным менингитом, обусловленный вирусом ЕСНО9, был зарегистрирован в Беларуси в 2016 г. [24]. Однако молекулярная эпидемиология вирусов ЕСНО9, циркулировавших в нашей стране, имела существенные отличия от закономерностей, обнаруженных другими авторами. Ранее было показано, что в странах с умеренным климатом ЕСНО9 демонстрировал эпидемическую модель циркуляции, сопровождавшуюся крупными, кратковременными вспышками, географически ограниченными определенным регионом. При этом изоляты, выделенных в одном регионе в один период времени, принадлежали к одному геноварианту и практически не имели различий в нуклеотидной последовательности [25]. Однако результаты, полученные нами, указывают на то, что в короткий период времени может иметь место циркуляция разных геновариантов, генотипов и, даже, геногрупп ЕСНО9. Так, в 2009 году одновременно циркулировали 2 геноварианта Е9А и Е9В, которые принадлежали к разным генотипам (ЕСНО9-F и ЕСНО9-С, соответственно) и геногруппам (ЕСНО9-II и ЕСНО9-I, соответственно). В 2014 году параллельно циркулировали 2 геноварианта – Е9В и Е9С, принадлежащих к генотипу ЕСНО9-С, а в 2016 – 4 геноварианта (Е9В, Е9С, Е9Е и Е9F), принадлежащих к генотипам ЕСНО9-С, ЕСНО9-Е и не идентифицированному генотипу ЕСНО9. Более того, установлено, что геновариант Е9В характеризовался эндемичным характером циркуляции и обнаруживался в 2009, 2014 и 2016 годах, что также противоречит результатам других авторов [25,26].

Вирус ЕСНО11 относительно менее активно исследован, чем другие типы ЭВ, что, возможно, обусловлено тем, что вспышки, вызванные этим типом случаются менее часто, происходят нерегулярно и являются более длительно протекающими, чем в случае ЕСНО30 и



ЕСНО9 [25]. Первые исследования молекулярной эпидемиологии этого типа были проведены в 2003 и показали, что в пределах типа выделяются 4 геногруппы вируса – ЕСНО11-А, В, С, D [28], впоследствии дополнительно были выделены геногруппы ЕСНО11-Е, F, G [25]. Наиболее широко распространенная геногруппа ЕСНО11-D включает 5 генотипов – ЕСНО11-D1 – ЕСНО11-D5. Сравнение геновариантов, циркулировавших в Беларуси, с ранее идентифицированными геногруппами показало, что геноварианты Е11А и Е11В принадлежали генотипу ЕСНО11-D4, а геновариант Е11С – генотипу ЕСНО11-D5. Особенности циркуляции ЕСНО11, обнаруженные нами, в целом совпадали с закономерностями, выявленными в ранее проведенных исследованиях: отдельные геноварианты циркулировали в течение длительного времени (Е11А – около 20 лет, с 1997 по 2015, Е11В – 2006, 2014) и на достаточно обширной территории – изоляты, практически идентичные Е11В, обнаруживались в России в 2001-2003, обладавший высокой степенью сходства с Е11А – в Финляндии в 1989. Так же регистрировалась одновременная циркуляция различных геновариантов вируса на территории Беларуси в 2006 и 2014.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили охарактеризовать фено- и генотипическое многообразие циркулировавших в Беларуси ЭВ и выявить ряд закономерностей, лежащих в основе вызываемых ими подъемов и спадов заболеваемости.

В течение периода наблюдения зарегистрирована циркуляция 44 различных типов ЭВ, среди которых преобладали представители вида *Enterovirus B* (97,8%), вирусы вида *Enterovirus A* составили 1,88%, вида *Enterovirus C* – 0,9% и всего 0,4% изолятов относились к виду *Enterovirus D*. Среди вирусов вида *Enterovirus B* преобладали изоляты типов Коксаки В5 (22,0% [19,7%; 24,7%]), ЕСНО 30 (12,0% [10,3; 14,0%]), ЕСНО11 (11,9% [10,2%; 13,9%]).

В годы эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ достоверно чаще идентифицировались вирусы ЕСНО 30 (25,5% и 2,2%, соответственно,  $p < 0,001$ ), ЕСНО 9 (3,6% и 0,6%, соответственно,  $p = 0,002$ ) и ЕСНО 11 (10,2% и 1,3%, соответственно,  $p < 0,001$ ), тогда как в годы эпидемического благополучия чаще выявлялись вирусы Коксаки В1, В2, В3 и В4 ( $p < 0,001$ ). Вирусы ЕСНО6 и Коксаки В5 выявлялись как в периоды эпидемических подъемов, так и спадов заболеваемости и характеризовались максимальным внутритиповым генетическим разнообразием, достоверно большим, чем типы ЕСНО30, ЕСНО6 и ЕСНО 11 ( $p < 0,05$ ).

За период наблюдения на территории Беларуси идентифицировано 9 геновариантов ЕСНО30, 6 геновариантов ЕСНО9, 3 геноварианта ЕСНО 11, 6 геновариантов ЕСНО 6 и 13 геновариантов Коксаки В5.

Для исследованных типов ЭВ были характерны два основных паттерна циркуляции геновариантов. Первый паттерн - длительная циркуляция одних и тех же геновариантов с периодическим появлением и исчезновением был характерен, по-видимому, для эндемичных геновариантов. Периоды их активной циркуляции связаны с накоплением достаточного количества неиммунного кон-

тингента детей, после чего интенсивность их циркуляции снижалась и они переставали выявляться. К таким геновариантам можно отнести CVB5A, CVB5J, E6A, E6D, ЕСНО11А, ЕСНО11В. Именно эти геноварианты выявлялись в годы снижения заболеваемости ЭВИ – 2005, 2008, 2015, 2019-2021. Второй паттерн циркуляции ЭВ – кратковременная циркуляция в течение 1-2 эпидемических сезонов, обусловленная заносом геноварианта извне. Характерен для всех геновариантов вируса ЕСНО30, большинства геновариантов ЕСНО9 и некоторых геновариантов других типов ЭВ. Циркуляция этих геновариантов регистрировалась в периоды эпидемических подъемов заболеваемости ЭВИ. Помимо всех геновариантов ЕСНО 30, такой паттерн циркуляции был характерен для геновариантов CVB5B, CVB5C, CVB5D, CVB5G, CVB5L, CVB5M, E6B, E6C, E6E, E6F, E9A, E9C, E9D, E9E, E9F, E11C.

Анализ генетического разнообразия типов ЕСНО30, 9, 11, 6, Коксаки В5 показал, что подъемы заболеваемости ЭВИ сопровождались максимальным количеством обнаруживаемых геновариантов – регистрировалась одновременная циркуляция четырех и более геновариантов «эпидемических» типов ЭВ, причем часть из них обязательно была новой для населения страны.

Полученные данные свидетельствуют о многофакторности формирования эпидемического процесса и значительного вклада в его формирование генетического многообразия возбудителей. Изучение этого явления, как в глобальном масштабе, так и более детально на территории отдельных регионов позволит на глубинном уровне понять закономерности, лежащие в основе появления и распространения эпидемически значимых геновариантов ЭВ и снизить ущерб, наносимый ими здоровью людей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses / P. Simmonds [et al.] // Arch. Virol. – 2020. – Vol. 165. – P. 793-797.
2. Molecular epidemiology and phylogenetics of human enteroviruses: Is there a forest behind the trees? / A.N. Lukashov [et al.] // Rev. Med. Virol. – 2018. – Vol. 28, no. 6. – e2002.
3. Enteroviral infection outbreak in the Republic of Belarus: principal characteristics and phylogenetic analysis of etiological agents / T.V. Amvrosieva [et al.] // Cent. Eur. J. Public Health. – 2006. – Vol. 14, no. 2. – P. 67-73.
4. Инструкция по лабораторной диагностике энтеровирусных инфекций: инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 12.04.2005, рег. № 133-1204 [Электронный ресурс] / сост.: Т.В. Амвросьева [и др.]; НИИ эпидемиол. и микробиол. – Режим доступа: <http://med.by/methods/pdf/133-1204.pdf>. – Дата доступа: 30.08.2023.
5. Использование различных модификаций метода ПЦР при диагностике энтеровирусных инфекций / Н.В. Поклонская [и др.] // Мед. новости. – 2004. – № 1. – С. 91-93.
6. Модифицированный метод гнездовой полимеразной цепной реакции в одной пробирке для детекции энтеровирусов / Н.В. Поклонская [и др.] // Клинич. лаб. ди-

агностика. – 2004. – № 4. – С. 46-47.

7. Молекулярно-эпидемиологический мониторинг энтеровирусной инфекции: инструкция по применению: утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.06.2009, рег. № 165-1208 / сост.: Т.В. Амвросьева [и др.]; НИИ эпидемиологии и микробиологии.

8. Kumar, S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // *Mol. Biol. Evol.* – 2016. – Vol. 33. – P. 1870-1874.

9. A decade of enterovirus genetic diversity in Belgium / E. Wollants [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2019. – Vol. 121. – 104205.

10. Epidemiology of Echovirus 30 infections detected in a University Hospital in Catalonia, Spain, in 1995-2020 / M. Del Cuerdo [et al.] // *Microorganisms.* – 2022. – Vol. 10, no. 3. – P. 592.

11. Molecular epidemiology and evolutionary trajectory of emerging Echovirus 30, Europe / K.S.M. Benschop [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2021. – Vol. 27, no. 6. – P. 1616-1626.

12. Global phylodynamics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages / C. Lema [et al.] // *Virology.* – 2019. – Vol. 531. – P. 79-92.

13. Bailly, J.L. Phylogeography of circulating populations of human echovirus 30 over 50 years: nucleotide polymorphism and signature of purifying selection in the VP1 capsid protein gene / J.L. Bailly, A. Mirand, C. Henquell // *Infect. Genet. Evol.* – 2009. – Vol. 9, no. 4. – P. 699-708.

14. Molecular epidemiology of echovirus 30: temporal circulation and prevalence of single lineages / G. Palacios [et al.] // *J. Virol.* – 2002. – Vol. 76. – P. 4940-4949.

15. Cabrerizo, M. Recombination and evolutionary dynamics of human echovirus 6 / M. Cabrerizo, G. Trallero, P. Simmonds // *J. Med. Virol.* – 2014. – Vol. 86, no. 5. – P. 857-864.

16. Molecular evolution and epidemiology of echovirus 6 in Finland / T. Smura [et al.] // *Infect. Genet. Evol.* – 2013. – Vol. 16. – P. 234-247.

17. Molecular epidemiological characteristics of echovirus 6 in mainland China: extensive circulation of genotype F from 2007 to 2018 / W. Cheng [et al.] // *Arch. Virol.* – 2021. – Vol. 166, no. 5. – P. 1305-1312.

18. Centers for Disease Control and Prevention. 2006. Enterovirus surveillance—United States, 1970-2005 / N. Khetsuriani [et al.] // *MMWR Surveill. Summ.* – 2006. – Vol. 55, no. 8. – P. 1-20.

19. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: virological and epidemiological studies / G. Trallero [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2010. – Vol. 47. – P. 170-176.

20. Characterization of a putative ancestor of coxsackievirus B5 / M. Gullberg [et al.] // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, no. 19. – P. 9695-9708.

21. Henquell, C. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission / C. Henquell, A. Mirand, J. Richter // *J. Virol.* – 2013. – Vol. 87, no. 22. – P. 12249-

12259.

22. Analysis of Coxsackievirus B5 infections in the central nervous system in Brazil: insights into molecular epidemiology and genetic diversity / R.S. Machado [et al.] // *Viruses.* – 2022. – Vol. 14, no. 5. – P. 899.

23. Fontana, S. Molecular characterization of Coxsackievirus B5 isolates from Sewage, Italy 2016-2017 / S. Fontana, S. Fiore, G. Buttinelli // *Food Environ. Virol.* – 2019. – Vol. 11, no. 4. – P. 440-445.

24. Молекулярная эпидемиология энтеровирусов, вызвавших тяжелые неврологические формы инфекции / Н.В. Поклонская [и др.] // *Известия НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* – 2017. – № 3. – С. 29-36.

25. Evolutionary dynamics and temporal/geographical correlates of recombination in the human enterovirus echovirus types 9, 11, and 30 / E.C. McWilliam Leitch [et al.] // *J. Virol.* – 2010. – Vol. 84, no 18. – P. 9292-9300.

26. Origin and evolution analysis and genetic characteristics of echovirus 9 in China / F. Si [et al.] // *Virol. J.* – 2022. – Vol. 19, no. 1. – P. 98.

27. Молекулярно-генетические варианты вируса ЕСНО 9, идентифицированные у больных серозным менингитом в России в 2007-2009 гг. / Л.Н. Голицына [и др.] // *Вопр. вирусологии.* – 2011. – № 6. – С. 37-42.

28. Molecular epidemiology and type-specific detection of echovirus 11 isolates from the Americas, Europe, Africa, Australia, southern Asia and the Middle East / M.S. Oberste [et al.] // *Virus Res.* – 2003. – Vol. 91. – P. 241-248.

## REFERENCES

1. Simmonds P, Gorbalenya A. E., Harvala H., Hovi T., Knowles N. J., Lindberg A. M., Oberste M. S., Palmenberg A. C., Reuter G., Skern T., Tapparel C., Wolthers K. C., Woo P. C. Y., Zell R. Recommendations for the nomenclature of enteroviruses and rhinoviruses. *Archives of virology*, 2020, vol. 165, no. 3, pp. 793-797. <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04520-6>

2. Lukashov A. N., Vakulenko Y. A., Turbabin N. A., Deviatkin A. A., Drexler J. F. Molecular epidemiology and phylogenetics of human enteroviruses: Is there a forest behind the trees? *Reviews in medical virology*, 2018, vol. 28, no. 6, pp. e2002. <https://doi.org/10.1002/rmv.2002>

3. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Biazruchka A. A., Kazinetz O. N., Bohush Z. F., Fisenko E. G. Enteroviral infection outbreak in the Republic of Belarus: principal characteristics and phylogenetic analysis of etiological agents. *Central European journal of public health*, 2006, vol. 14, no. 2, pp. 67-73. <https://doi.org/10.21101/cejph.a3369>

4. Instructions for laboratory diagnosis of enterovirus infections: instructions for use. Ministry of Health, 12.04.2005, Reg. № 133-1204 [Electronic recourse] / Amvrosieva T. V. [et al.]; Scientific Research Institute of Epidemiol. and microbiol. – Mode of access: <http://med.by/methods/pdf/133-1204.pdf>. – Date of access: 30.08.2023 (in Russian)..

5. Pоклонская N. V., Амвросьева T. V., Дьяконова O. V., Шчербакова O. B. The use of various modifications of the polymerase chain reaction method in the diagnosis of

- enterovirus infections. *Meditinskije novosti*, 2004, no. 1, pp. 91-93 (in Russian).
6. Poklonskaya N. V., Amvroseva T. V., Dyakonova O. V., Shcherbakova O. B., Voilokova R. Ya. Modified method of nested polymerase chain reaction in one tube for the detection of enteroviruses. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*, 2004, no. 4, pp. 46-47 (in Russian).
  7. Molecular epidemiological monitoring of enterovirus infection: instructions for use, Ministry of Health 11.06.2009, Reg. № 165-1208 / Amvrosieva T. V. [et al.]; Scientific Research Institute of Epidemiol. and microbial (in Russian)..
  8. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular biology and evolution*, 2016, vol. 33, no. 7, pp. 1870-1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
  9. Wollants E., Beller L., Beuselinck K., Bloemen M., Lagrou K., Reynders M., Van Ranst M. A decade of enterovirus genetic diversity in Belgium. *Journal of Clinical Virology*, 2019, vol. 121, pp. 104205. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2019.104205>
  10. Del Cuerpo M., Gonzalez de Audicana J., Fernandez-Garcia M.D., Marín P., Esteban M., Español M., Cabrerizo M., Rabella N. Epidemiology of Echovirus 30 infections detected in a University Hospital in Catalonia, Spain, in 1995-2020. *Microorganisms*, 2022, vol. 10, no. 3, pp. 592. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030592>
  11. Benschop K. S. M., Broberg E. K., Hodcroft E., Schmitz D., Albert J., Baicus A., Bailly J.L., Baldvinsdottir G., Berginc N., Blomqvist S. [et al.] Molecular epidemiology and evolutionary trajectory of emerging Echovirus 30, Europe. *Emerging infectious diseases*, 2021, vol. 27, no. 6, pp. 1616-1626. <https://doi.org/10.3201/eid2706.203096>
  12. Lema C., Torres C., Van der Sanden S., Cisterna D., Freire M. C., Gómez R. M. Global phylodynamics of Echovirus 30 revealed differential behavior among viral lineages. *Virology*, 2019, vol. 531, pp. 79-92. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.02.012>
  13. Bailly J. L., Mirand A., Henquell C., Archimbaud C., Chambon M., Charbonné F., Traoré O., Peigue-Lafeuille H. Phylogeography of circulating populations of human echovirus 30 over 50 years: nucleotide polymorphism and signature of purifying selection in the VP1 capsid protein gene. *Infection, genetics and evolution*, 2009, vol. 9, no. 4, pp. 699-708. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2008.04.009>
  14. Palacios G., Casas I., Cisterna D., Trallero G., Tenorio A., Freire C. Molecular epidemiology of echovirus 30: temporal circulation and prevalence of single lineages. *Journal of virology*, 2002, vol. 76, no. 10, pp. 4940-4949. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.10.4940-4949.2002>
  15. Cabrerizo M., Trallero G., Simmonds P. Recombination and evolutionary dynamics of human echovirus 6. *Journal of medical virology*, 2014, vol. 86, no. 5, pp. 857-864. <https://doi.org/10.1002/jmv.23741>
  16. Smura T., Kakkola L., Blomqvist S., Klemola P., Parsons A., Kallio-Kokko H., Savolainen-Kopra C., Kainov D. E., Roivainen M. Molecular evolution and epidemiology of echovirus 6 in Finland. *Infection, genetics and evolution*, 2013, vol. 16, pp. 234-247. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2013.02.011>
  17. Cheng W., Ji T., Zhou S., Shi Y., Jiang L., Zhang Y., Yan D., Yang Q., Song Y., Cai R., Xu W. Molecular epidemiological characteristics of echovirus 6 in mainland China: extensive circulation of genotype F from 2007 to 2018. *Archives of virology*, 2021, vol. 166, no. 5, pp. 1305-1312. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04934-7>
  18. Khetsuriani N., Lamonte-Fowlkes A., Oberst S., Pallansch M. A. Centers for Disease Control and Prevention. Enterovirus surveillance--United States, 1970-2005. *Morbidity and mortality weekly report. Surveillance summaries / CDC*, 2006, vol. 55, no. 8, pp. 1-20.
  19. Trallero G., Avellon A., Otero A., De Miguel T., Pérez C., Rabella N., Rubio G., Echevarria J. E., Cabrerizo M. Enteroviruses in Spain over the decade 1998-2007: virological and epidemiological studies. *Journal of clinical virology*, 2010, vol. 47, no. 2, pp. 170-176. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2009.11.013>
  20. Gullberg M., Tolf C., Jonsson N., Mulders M. N., Savolainen-Kopra C., Hovi T., Van Ranst M., Lemey P., Hafenstein S., Lindberg A. M. Characterization of a putative ancestor of coxsackievirus B5. *Journal of medical virology*, 2010, vol. 84, no. 19, pp. 9695-9708. <https://doi.org/10.1128/JVI.00071-10>
  21. Henquell C., Mirand A., Richter J., Schuffenecker I., Böttiger B., Diedrich S., Terletskaia-Ladwig E., Christodoulou C., Peigue-Lafeuille H., Bailly J. L. Phylogenetic patterns of human coxsackievirus B5 arise from population dynamics between two genogroups and reveal evolutionary factors of molecular adaptation and transmission. *Journal of virology*, 2013, vol. 87, no. 22, pp. 12249-12259. <https://doi.org/10.1128/JVI.02075-13>
  22. Machado R. S., Gomes-Neto F., Aguiar-Oliveira M. L., Burlandy F. M., Tavares F. N., da Silva E. E., Sousa I. P. Jr. Analysis of Coxsackievirus B5 infections in the central nervous system in Brazil: insights into molecular epidemiology and genetic diversity. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 5, pp. 899. <https://doi.org/10.3390/v14050899>
  23. Fontana S., Fiore S., Buttinelli G., Amato C., Veronesi L., Zoni R., Triassi M., Pennino F., Giammanco G. M., De Grazia S., Cicala A., Siragusa A., Gamper S., Spertini S., Castiglia P., Cossu A., Germinario C., Larocca A. M. V., Stefanelli P. Molecular characterization of Coxsackievirus B5 Isolates from Sewage, Italy 2016-2017. *Journal of food and environmental virology*, 2019, vol. 11, no. 4, pp. 440-445. <https://doi.org/10.1007/s12560-019-09395-z>
  24. Paklonskaya N. V., Amvrosieva T. V., Lozuk S. K., Shilova Y. A., Bogush Z. F., Biskina N. M. Molecular epidemiology of enteroviruses causing severe neurological infection forms. *Vestsi Natsyyanal'най akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2017, no. 3, pp. 29-36 (in Russian).
  25. McWilliam Leitch E. C., Cabrerizo M., Cardoso J., Harvala H., Ivanova O. E., Kroes A. C., Lukashev A., Muir P., Odoom J., Roivainen M., Susi P., Trallero G., Evans

D. J., Simmonds P. Evolutionary dynamics and temporal/geographical correlates of recombination in the human enterovirus echovirus types 9, 11, and 30. *Journal of virology*, 2010, vol. 84, no. 18, pp. 9292-9300. <https://doi.org/10.1128/JVI.00783-10>

26. Si F., Ji T., Wang D., Zhang Y., Zhu S., Li J., Xu W., Yan D. Origin and evolution analysis and genetic characteristics of echovirus 9 in China. *Virology journal*, 2022, vol. 19, no. 1. – pp. 98. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01820-3>

27. Golitsyna L. N., Fomina S. G., Novikova N. A., Epifanova N. V., Parfenova O. V., Lukovnikova L. B., Zverev V. V., Ponomareva N. V., Mazepa V. N., Grigor'eva G. I., Efimov E.I. Molecular genetic echovirus 9 variants identified in patients with aseptic meningitis in Russia in 2007-2009. *Voprosy virusologii = Problems of virology*, 2011, vol. 56, no. 6, pp. 37-42 (in Russian).

28. Oberste M. S., Nix W. A., Kilpatrick D. R., Flemister M. R., Pallansch M. A. Molecular epidemiology and type-specific detection of echovirus 11 isolates from the Americas, Europe, Africa, Australia, southern Asia and the Middle East. *Virus research*, 2003, vol. 91, no. 2, pp. 241-248. [https://doi.org/10.1016/s0168-1702\(02\)00291-5](https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00291-5)

UDC 616-036.22:578.835.1(476)

PHENOTYPIC AND GENETIC DIVERSITY OF ENTEROVIRUSES IN THE REPUBLIC OF BELARUS,  
2003-2022

N.V. Paklonskaya, T.V. Amvrosieva, Z.F. Bogush, Yu. A. Shilova, Yu. B. Koltunova, A. M. Dashkevich, V.V. Zapolskaya,  
E.P. Kishkurno

<sup>1</sup>The Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology

<sup>2</sup> State Institution «Republican Center For Hygiene, Epidemiology And Public Health»

<sup>3</sup>Belarusian Research Center For Pediatric Oncology, Hematology And Immunology

\*labsanvir@gmail.com

**ABSTRACT**

Enteroviruses (EV) are widespread viral agents that regularly cause epidemic outbreaks of diseases that are characterized by a variety of clinical manifestations. The aim of this work was to study the phenotypic and genotypic diversity of non-poliomyelitis EVs that circulated from 2003 to 2022 in our country during epidemic upsurges and decreases of enteroviral morbidity. It was established that during this period there was a circulation of 44 different types of EVs belonging to the species *Enterovirus B* (97.8%), *Enterovirus A* (1.88%), *Enterovirus C* (0.9%), *Enterovirus D* (0.4 %). Among *Enterovirus B* viruses, Coxsackievirus B5, ECHO 30, and ECHO11 prevailed. During the years of epidemic rises of morbidity, the ECHO 30, ECHO 9 and ECHO 11 viruses were significantly more often identified ( $p < 0.001$ ), while in the years of decreases Coxsackievirus B1, B2, B3 and B4 were detected more often ( $p < 0.001$ ). ECHO 6 and Coxsackievirus B5 viruses were registered both during periods of epidemic ups and downs and were characterized by the maximum intratype genetic diversity, significantly greater than ECHO30, ECHO6 and ECHO 11 ( $p < 0.05$ ). During the observation period, 9 genetic variants of ECHO 30, 6 – of ECHO 9, 3 – of ECHO 11, 6 – of ECHO 6 and 13 – of Coxsackievirus B5 were identified. An analysis of the genetic diversity of ECHO 30, 9, 11, 6, Coxsackie B5 viruses showed that the upsurges of enteroviral morbidity was accompanied by the maximum number of detected genetic variants and some of them were new to the country's population.

The data obtained indicate the multifactorial nature of the formation of the epidemic process and a significant contribution to its formation of the genetic diversity of pathogens.

**Keywords:** enterovirus, genetic diversity, epidemic upsurges, genotype, genetic variant.